

Wnt 신호 전달 연구의 최신 지견

김완태 · 차복식 · 조익훈[†]

서울시립대학교 생명과학과

Current Status of Research in Wnt Signal Transduction

Wantae Kim, Boksik Cha and Eekhoon Jho[†]

Dept. of Life Science, The University of Seoul, Seoul 130-743, Korea

ABSTRACT : The Wnt signaling pathway regulates cell proliferation and differentiation during development of multicellular organisms and plays pivotal roles in the maintenance of homeostasis in adult tissues. Therefore misregulation of Wnt signaling could be a pathogenesis of diverse human diseases such as cancers. Recently, the list of diseases that may be linked to the misregulation of Wnt signaling has exploded and more people are getting interested in the way of controlling Wnt signaling. There are a lot of review papers, however, since most of them have focused on specific issues for experts in Wnt signaling it may be difficult for new comers to understand the overall background and current status of Wnt signaling. In this review, we present data and interpretations for the overall processes of Wnt signal transduction to understand the past and current status of Wnt signaling.

Key words : Wnt, Fz, LRP, Dvl, Axin, β -catenin, TCF/LEF, Target genes.

요 약 : Wnt 신호 전달 과정은 다세포 생물체의 발생 과정에서 세포의 증식이나 분화를 조절하거나 성인 조직에서 항상성을 유지하는데 결정적인 역할을 한다. 따라서 Wnt 신호 전달의 조절에 이상이 생기면 암을 비롯한 다양한 질병이 유발되어진다. 최근 들어서 Wnt 신호 전달의 이상에 의해 유도될 것이라고 생각되어지는 질병의 수가 많아져서, Wnt 신호 전달의 조절에 관심을 갖는 연구자가 많아지고 있다. 많은 리뷰 논문이 출판되었지만, 대부분의 경우 Wnt 전문가들을 위한 특정 논제를 다루는 경우가 많기 때문에, 처음으로 Wnt 신호 전달을 연구하고자 하는 연구자들이 Wnt 신호 전달의 전체적인 흐름을 파악하는데 어려움을 겪는 예가 있다. 본 총설에서는 Wnt 신호 전달 과정을 전체적으로 설명함으로써 Wnt 신호 전달에서 우리가 알고 있는 사실과 앞으로 연구되어야 할 내용들을 이해하고자 한다.

서 론

발생 과정은 다양한 signaling molecule들의 정교한 발현에 의해 조절된다고 할 수 있다. Fibroblast growth factor (FGF), Transforming growth factor- β (TGF- β), Hedgehog, Notch 및 Wnt family 단백질들의 상호 작용에 의해 embryo의 patterning이 결정이 된다는 사실이 잘 알려져 있다(Stathopoulos and Levine, 2003). 이러한 signaling들은 발생 과정뿐만 아니라 cell fate의 결정, differentiation 및 proliferation 등도 조절하기 때문에 정교한 조절이 일어나지 않을 경우 다양한 질병이 유도된다. 따라서 발생 과정의 이해 및 질

병의 치료 방법을 발굴하기 위해서는 각각의 signaling 단백질의 생성, target 세포로의 전달, 세포내에서의 신호 전달 과정 및 target 유전자의 발현 조절 기전을 분자적 수준에서 이해하는 것이 필수적이라고 할 수 있다.

여러 가지 동물 모델의 genetic analysis를 이용한 연구 결과, Wnt 신호 전달은 배아 발생 과정에서 상당히 중요한 역할을 하고 있다고 밝혀졌다. Mouse의 경우, 현재 밝혀진 Wnt 단백질의 종류가 19종이고, Wnt signaling의 전달에 관련된 receptor의 종류가 다양하고 발현되는 장소와 시간이 다르기 때문에 각각의 gene이 delete 되었을 경우, 서로 다른 발생의 이상이 나타나게 된다(Mikels and Nusse, 2006). 하지만, 최근의 연구 결과는 Wnt 신호 전달의 배아 발생 과정의 조절뿐만 아니라 adult tissue의 homeostasis의 조절에도 중요한 역할을 하고 있다는 사실을 보여준다. 따라서 Wnt 신호 전달

[†] 교신저자: 서울시 동대문구 전농동 90, 서울시립대학교 생명과학과, (우) 130-743, (전) +82-2-2210-2681, (팩) +82-2-2210-2888, E-mail: ej70@uos.ac.kr

에 이상이 생기면, 기형 발생뿐만 아니라 여러 가지 질병과 관련된 현상들이 유도된다. Wnt 신호 전달의 이상은 각종 암의 발병을 유도할 뿐 아니라, 골다공증, 비만/당뇨, 알츠하이머 치매의 유발에도 관여한다고 밝혀져 왔다(Moon et al., 2004). 특히 최근에는 Wnt signaling이 노화의 조절 및 진행 과정에서 작용한다는 사실도 보고된 바 있다(Brack et al., 2007; Liu et al., 2007). Wnt signaling에 대한 관심이 더욱 고조된 이유는 Wnt signaling이 embryonic stem cell 또는 여러 가지 종류의 adult stem cell의 stemness의 유지나 proliferation의 조절에서 중요한 역할을 하고 있다는 사실이 밝혀지고 있기 때문이라고 할 수 있다(Kléber and Sommer, 2004). 지금까지 밝혀진 것 이외에도 앞으로 더 많은 Wnt signaling이 조절하는 생명현상들이 밝혀질 것이 기대되므로 향후 Wnt signaling의 연구는 더욱 가속화 될 것이라고 생각한다. Wnt signaling에 대한 다양하고 update된 정보는 Stanford 대학의 Dr. Roel Nusse group이 운영하는 site에서 얻을 수 있다(<http://www.stanford.edu/~rnusse/wntwindow.html>).

HISTORY OF Wnt SIGNALING RESEARCH

Nusse and Varmus는 Mouse Mammary Tumor Virus(MMTV)가 동일한 host genome locus에 integration됨으로서 다양한 암을 유발함을 발견하고, 이 locus에 있는 gene을 *int-1*(integration-1)이라고 명명하였다(Nusse and Varmus, 1982). Nusse group은 *int-1*을 probe로 사용하여 *Drosophila melanogaster* homolog *Dint-1*을 cloning하였고, 이 gene이 segment polarity gene인 *wingless*와 동일한 유전자임을 밝혔다(Rijsewijk et al. 1987). 그 후 여러 가지 *int-1* related gene들이 밝혀짐에 따라 당시 이 분야에서 왕성한 연구 활동을 벌이고 있던 Harold Varmus를 비롯한 여러 학자들이 공동으로 Cell지에 'Letter to Editor' 형식으로 논문을 기고하여 *Wingless(wg)*와 *int-1*을 합쳐서 *Wnt*라고 명명하게 되었다(Nusse et al. 1991).

Wnt signaling이 over-activation되어도 *Drosophila*의 경우에는 tumor를 유도하지는 않지만, *Wg*의 loss of function 또는 gain of function은 쉽게 관찰할 수 있는 phenotypic fate transformation을 유발하게 된다. *Wingless*라는 이름에서 추측할 수 있는 바와 같이 *wg* gene에 mutation이 생겼을 경우 한쪽 또는 양쪽 날개가 deletion되는 현상이 관찰된다

(Baker, 1987). 하지만, 날개가 없는 phenotype을 나타내는 경우는 실제로 *wg* gene이 deletion된 경우가 아니라 regulatory region에 mutation이 생겨 *wg*의 발현이 억제되어서 일어나는 hypomorphic phenotype임이 밝혀졌다. 실제로 *wingless* gene이 deletion된 경우는 embryonic lethality를 나타낸다(Babu, 1977).

Drosophila embryogenesis의 마지막 단계에서 epidermal cell은 cuticular exoskeleton을 분비하여 larva를 보호하는 층을 형성한다. 이 상태의 embryo는 8개의 복부 절편(abdominal segments)을 포함하고 있는데, 각각의 절편은 denticle이라고 불리는 작은 이빨 모양의 돌기들이 나온 부분과 denticle이 없는 naked cuticle이라고 불리는 부분이 반복되는 구조를 갖고 있다(Bejsovec, 2006). *Wg* null mutant일 경우에는 naked cuticle 층이 없어져서 모든 abdominal segment가 denticle로 덮혀진 형태를 나타내게 되고, *wg*가 ectopically 발현되는 경우에는 denticle이 없는 'naked cuticle' phenotype을 나타내게 된다(Noordemeer et al., 1992; Bejsovec, 2006). 이러한 phenotype은 Wnt signal transduction에 관여하는 molecule들의 genetic screening에 이용되어져 왔다. 예를 들어 1995년에 Nobel 상을 수상한 Wieschaus와 Nüsslein-Volhard의 genetic screen에서 발견된 *armadillo*나 *arrow* mutants는 *wg*의 loss of function phenotype인 'all denticle phenotype'을 나타내었는데, 이들은 각각 Wnt signaling의 positive regulator인 β -catenin과 co-receptor인 LRP5/6를 coding하는 유전자임이 밝혀졌다(Jürgens et al., 1984; Nüsslein Volhard et al., 1984; Wieschaus et al., 1984; Wehrli et al., 2000).

Wnt signaling에 관한 연구는 *int-1*의 과발현이 tumor를 유발한다는 발견에서 시작되었지만, *wg*와 동일한 gene임이 밝혀진 이후로 developmental biology 분야에서 더 많은 연구가 진행되어져 왔으며, *Drosophila*를 이용한 genetic screening을 통하여 Wnt signaling과 관련된 components의 발굴 및 mouse model에서 다양한 Wnt gene을 specific하게 knockout시켜서 Wnt의 발생에서의 역할을 규명하는 연구가 주 연구 주제였다(van Amerongen and Berns, 2006). 하지만, 서양인에게서 발생하는 암 중 가장 빈도가 높은 대장암을 유발하는 원인 유전자가 adenomatous polyposis coli gene이고, 이 gene product인 APC protein이 Wnt signaling의 key regulator molecule인 β -catenin의 level을 조절함이 밝혀짐으로

써 tumorigenesis에서의 Wnt signaling의 역할이 다시 주목을 받게 되었다(Rubinfeld et al., 1993; Su et al., 1993). Wnt/ β -catenin signaling에 의해 발현이 조절되는 유전자의 발굴이 수행되어졌고, cell cycle을 조절하는 c-myc이나 cyclin D1이 target 유전자임이 밝혀짐으로써 Wnt signaling의 과 발현에 의한 암의 유도가 분자적 수준에서 이해가 되기 시작하였다(He et al., 1998; Tetsu and McCormick, 1999). 그 후 *Drosophila* genetics를 통해 밝혀진 Wnt signaling의 조절 유전자들의 역할을 cancer 형성 과정에서 재조명하는 시도가 많이 이루어졌다. 또한, yeast two hybrid screening이나 proteomics 또는 siRNA를 이용한 high throughput screening 방법을 이용하여 Wnt signaling components와 interaction 하는 새로운 단백질의 발굴뿐만 아니라 다른 signaling과의 cross-talk에 관련된 연구가 많이 진행되고 있다(Das-Gupta et al., 2005; Stelzl et al., 2005).

Wnt signaling에 관련된 연구가 그 이전보다 더 많은 주목을 받는 이유는 Wnt signaling의 mis-regulation에 의해서 유도되는 질병의 종류가 점점 많아지고 있기 때문이다. 골다공증, 알츠하이머 치매, 당뇨 및 비만, 정신질환을 비롯하여 최근에는 노화 과정에도 Wnt signaling의 적절한 조절이 필요하다고 밝혀졌다(Moon et al., 2004). 따라서 이러한 다양한 질병을 치료하기 위하여 Wnt signaling을 regulation할 수 있는 small molecule의 screening이 활발하게 진행되어지고 있다(Zhang et al., 2004). 특히 최근에는 Wnt signaling이 embryonic 또는 adult stem cell의 self renewal 또는 differentiation에 중요하다고 밝혀짐으로써 더 많은 관심을 받게 되었다. 향후 Wnt signaling의 연구는 지금까지의 발생학과 cancer biology의 측면에서 축적된 연구 결과를 바탕으로 다양한 인간 질병의 치료제 개발을 위한 연구로 집중되리라고 여겨진다.

STRUCTURE OF Wnts

Wnt는 secretion되는 단백질로서 active form이 되기 위해서는 glycosylation 및 lipid modification(palmitoylation)이 필요하다고 알려져 있다. 현재 mouse의 경우는 19종, *Drosophila*의 경우는 8종이 알려졌다(<http://www.stanford.edu/~rnusse/wntwindow.html>). 몇몇의 Wnt를 제외하고는 대개의 Wnt는 약 350 amino acids 로 이루어져 있고, 평균 23~25개의 cy-

stein residue를 갖고 있으며, 이 region은 다른 종의 상응하는 Wnt에서 highly conserve되어 있다(Mason et al., 1992). Wnt는 amino acid sequence 상으로 볼 때 상당히 hydrophilic한 protein으로 여겨지지만, 실제로는 hydrophobic한 molecule임이 밝혀졌다. Wnt는 biologically active한 형태로는 그동안 purification이 불가능한 molecule로 여겨졌으나, 최근 들어서 purification이 가능하게 되었다(Willert et al., 2003; Mikels and Nusse, 2006). 현재까지 Wnt의 3차원적 구조는 밝혀지지 않은 상태이다. Wnt signaling의 연구에서 가장 어려웠던 점 중의 하나는 각각의 Wnt에 대한 specific한 antibody가 존재하지 않는 것이었다. 하지만, 현재는 Wnt의 purification이 가능하게 되어 각각의 Wnt에 대한 antibody가 속속 제작되어져서 *in vivo*에서의 실제 Wnt의 level이나 변화를 관찰하는 실험이 시도되어지고 있다.

Wnt SIGNAL TRANSDUCTION OVERVIEW

Wnt signaling은 cytoplasmic β -catenin의 level의 조절에 의해 신호가 전달되는 canonical signaling과 세포내 Ca^{2+} level의 조절이나, Rho/Rac 등의 small G protein에 의해 조절되는 non-canonical signaling으로 구분할 수 있다(Huelsken and Behrens, 2002). Wnt signaling과 관련된 대부분의 연구가 canonical signaling에 집중되었지만, 최근 들어서는 non-canonical Wnt signaling의 연구도 많은 관심을 받고 있다. Non-canonical Wnt signalling은 *Drosophila*의 wing hair의 방향성을 결정하는 planar cell polarity에 관여하거나 gastrulation 단계에서 convergent extension을 조절한다고 밝혀졌으며, 최근에는 cytoskeleton structure를 조절함에 의해서 cell migration을 조절하여 암 세포의 migration에도 관여한다는 사실도 밝혀졌다(Katoh, 2005). 몇 년 전까지는 세포내에서 cytoplasmic β -catenin level을 증가시키는 여부에 따라 특정 Wnt는 canonical, 다른 Wnt는 non-canonical signaling을 전달한다고 간주되었다. 가령 Wnt1, Wnt3a 등은 canonical Wnt이고, Wnt5a는 non-canonical Wnt로 여겨졌다. 하지만, Wnt5a도 세포내 Wnt receptor의 context에 따라 canonical Wnt signaling을 전달한다는 사실이 밝혀짐으로써 최근에는 이런 구분은 점차 무의미해지고 있는 실정이다(Mikels and Nusse, 2006). 따라서, 이제는 세포내에서 β -catenin에 의해 signaling이 전달되는지 여부에 따라 canon-

ical/non-canonical signaling을 구별하고 있다. 본 총설에서는 많은 연구가 진행되어진 canonical Wnt signaling에 집중하여 설명하고자 한다. Non-canonical Wnt signaling에 관련된 정보는 다른 review 논문을 참조하여 얻을 수 있다(Vee-man et al., 2003).

Wnt가 없는 조건에서 canonical Wnt signaling의 key effector molecule인 β -catenin은 scaffolding protein인 Axin과 APC를 포함하는 complex 내에서 Casein Kinase I α (CKI α)와 glycogen synthase kinase 3 β (GSK3 β)에 의해 phosphorylation 된다(Fig. 1A). Phosphorylation된 β -catenin은 F-box domain을 갖고 있는 β -TrCP라는 E3 ligase에 의해 인식되어져서 ubiquitin/proteasome pathway에 의해 degradation 되어짐으로써 cytoplasm 내의 β -catenin의 농도는 낮게 유지된다.

하지만, 외부로부터 Wnt가 와서 plasma membrane에 있

는 receptor인 Frizzled(Fz)와 co-receptor인 LRP5/6에 결합하게 되면 casein kinase I γ (CKI γ)와 membrane에 있는 GSK3 β 에 의해서 LRP의 phosphorylation이 일어나게 된다. 아직 기전은 명확히 밝혀져 있지 않지만, β -catenin degradation complex에 있는 GSK3 β 의 활성이 억제됨과 동시에 scaffolding protein으로서 cytoplasm에서 β -catenin의 degradation에 관여하는 Axin이 membrane으로 이동하여 phosphorylation된 LRP에 결합하게 된다. Axin이 membrane으로 이동하게 되고 GSK3 β 의 activity가 억제됨으로써 β -catenin은 더 이상 GSK3 β 에 의해 phosphorylation 되지 않게 된다. β -TrCP는 unphosphorylated 형태의 β -catenin을 인식할 수 없기 때문에 β -catenin의 degradation이 더 이상 일어나지 않게 되어 cytoplasmic β -catenin의 농도가 높아지게 된다. 축적된 β -catenin은 핵내로 이동하여 repressor로 작용하고 있었던 Tcf/LEF를 활성화시킴으로써 다양한

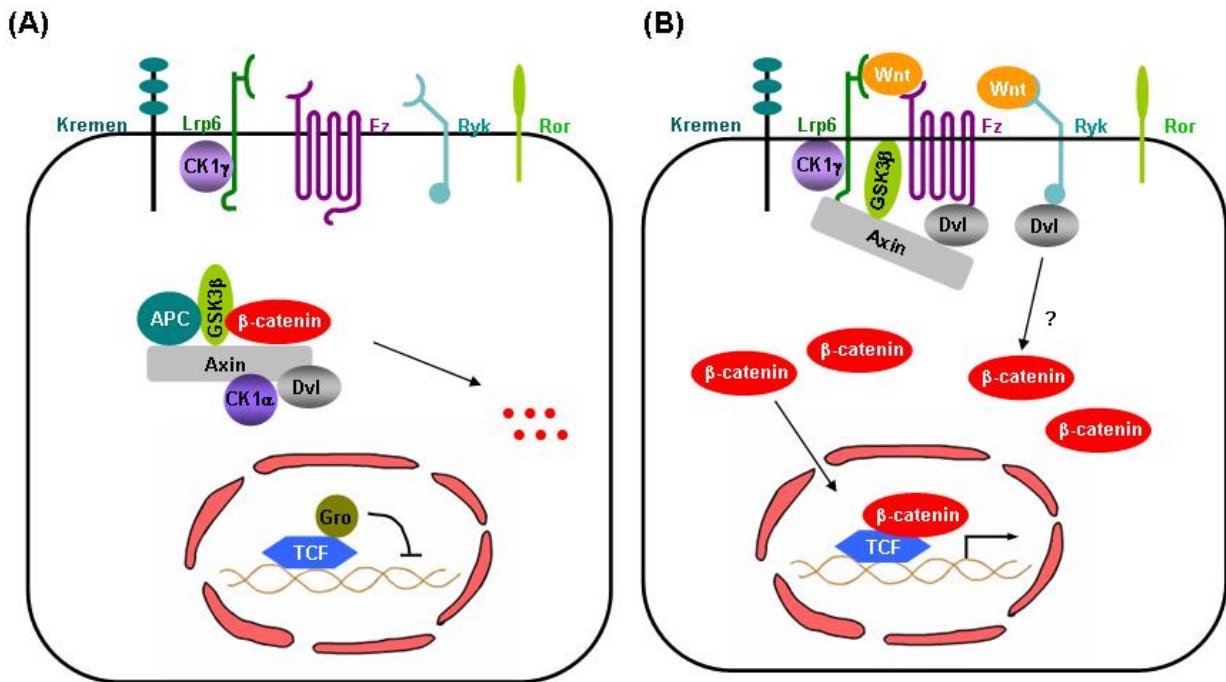


Fig. 1. The canonical Wnt signaling pathway. (A) In the absence of Wnt, β -catenin is phosphorylated by CKI α and GSK3 β in the Axin complex, which leads to degradation of β -catenin by ubiquitin/proteasome mediated degradation pathway. (B) In the presence of Wnt, Axin and Dvl are translocated to membrane and bind to the LRP and Fz, respectively. Phosphorylation of LRP by CKI γ and GSK3 β is necessary for the interaction between Axin and LRP. Presence of Wnt may causes oligomerization of LRP and Fz however, the significance is not known yet. This sequestration of Axin from the β -catenin degradation complex results in accumulation of β -catenin in the cytoplasm. The accumulated β -catenin get into nucleus and binds to TCF/LEF to activate transcription of target genes. Ryk can mediate Wnt signaling and Dvl may be involved in that process.

target 유전자의 transcription을 촉진하게 된다(Fig. 1B). 본 총설의 후반부에서는 Wnt 생성 및 분비를 비롯하여 canonical Wnt signaling이 전달되는 과정을 여러 단계로 나누어서 고찰해 보고자 한다.

POST-TRANSLATIONAL MODIFICATION OF Wnt AND SECRETION

Wnt가 secretion되고 생물학적 활성을 갖기 위해서는 크게 두 가지 post-translational modification이 중요하다고 알려져 있다. 아직 glycosylation이 Wnt의 기능이나 적절한 folding에 직접적인 영향을 준다는 증거는 없지만, immature Wnt가 ER에 오게 되면 oligosaccharyl transferase complex에 의해서 glycosylation이 일어난다(Mason et al., 1992; Tannaka et al., 2002). ER 내에서 Wnt는 heat shock protein의 일종인 BiP protein과 결합하는데, BiP은 misfolding된 Wnt가 secretion 되는 것을 방지하는 역할을 하고 있다고 여겨진다(Burrs and McMahon, 1995). 최근에 Wnt의 purification이 가능하게 됨으로써 알게 된 또 하나의 modification은 lipid modification의 일종인 palmitoylation이다(Willert et al., 2003). Wnt의 N-terminal region에 부착된 palmitate group이 제거되면 Wnt는 활성을 잃게 된다(Willert et al., 2003). 이 hydrophobic lipid modification은 Wnt를 ER membrane으로 targeting시켜서 glycosylation이 잘 일어나게 하거나, 아니면, Wnt 내에 있는 cysteine residues들 간의 disulfide bond의 형성을 억제함에 의해서 aberrant folding이 일어나는 것을 억제하는 역할을 한다고 여겨진다(Bijlmakers and Marsh, 2003). 위에서 언급한 바와 같이 Wnt의 primary sequence는 상당히 hydrophilic 하리라고 예상되지만, 실제로 hydrophobic한 성질을 나타내는 것은 palmitoylation 되었기 때문이며, 이 lipid-modification은 Wnt가 secretion된 후 membrane에 targeting되게 하여 receptor 근처의 local concentration을 증가시킴으로써 Wnt signaling을 좀더 효율적으로 initiation시킬 수 있다고 생각되어진다.

위에서 언급한 두 가지 post-translational modification은 ER membrane protein이고, membrane-bound *O*-acyltransferase family protein인 Porcupine에 의해 조절된다고 알려져 있다(Tanaka et al., 2002). Porcupine은 Wnt와 결합함으로써 Wnt의 적절한 conformation을 유지시켜서 oligosac-

charyl transferase complex에 의한 glycosylation을 유도한다고 여겨진다. Porcupine이 실제로 Wnt를 palmitoylation 시킨다는 직접적인 증거는 없지만, Porcupine이 없으면 Wnt가 hydrophobic하지 않게 되거나, Wnt signaling activity가 감소되는 현상들로 미루어 Porcupine이 Wnt의 palmitoylation에 관여한다고 받아들여지고 있다(Willert et al., 2003).

ER에서 post-translationally modify된 Wnt는 Golgi/trans-Golgi network을 옮겨진 다음에 세포 밖으로 secretion 된다. Conserved seven-pass transmembrane protein인 Wntless/Evi가 없을 때 Wnt가 Wnt producing cell에 축적이 되고 Wnt loss-of-function phenotype을 나타낸다는 사실로 미루어 Wntless/Evi라는 단백질이 Wnt의 secretion에 중요한 역할을 담당하고 있다고 밝혀졌다(Banziger et al., 2006; Bartscherer et al., 2006). Wnt가 어떻게 세포 간에 이동되어지는지는 본 총설에서는 다루지 않지만, 최근에 출판된 review 논문에서 상세히 다루고 있다(Coudreuse and Korswagen, 2007).

Wnt SIGNAL TRANSDUCTION

1. Wnt Receptors

Frizzled(Fz)가 cystein-rich domain을 갖고 있는 seven-pass transmembrane protein으로서 Wnt를 인식하는 receptor라는 것은 오래전부터 알려져 왔다(Bhanot et al., 1996). Mammalian의 경우 10가지 종류의 Fz가 존재하고, *in vitro* system에서 특정 Fz와 Wnt의 combination이 다른 조합보다 더 효율적이라는 사실이 밝혀지긴 했지만, 실제로 *in vivo*에서 어떤 Fz가 어떤 Wnt와 specific하게 결합하여 신호를 전달하는지는 명확하지 않다. Wnt signaling의 효율적인 전달을 위해서는 Wnt가 Fz와 직접적으로 결합하는 것 이외에도 co-receptor인 single transmembrane protein LRP5/6(*Drosophila* homolog는 Arrow)와의 결합이 필수적임이 밝혀졌다(Tamai et al., 2000; Wehrli et al., 2000). 아직 기전은 분명히 밝혀져 있지 않지만, LRP5/6와 Fz의 extracellular domain에 Wnt가 결합함으로써 두 protein의 cytoplasmic domain이 인접하게 되는 것이 Wnt signaling의 initiation에 필수적인 첫 단계라고 여겨진다.

Wnt를 인식하는 또 다른 receptor로는 receptor tyrosine kinase family인 single transmembrane protein Ryk/De-

railed가 있는데, *Drosophila*에서는 Dwnt-5와 결합하여 axon guidance를 조절하고(Yoshikawa et al., 2003), Mammalian에서는 Wnt3a와 결합하여 canonical Wnt signaling을 활성화시킴으로써 axon guidance를 조절한다고 밝혀졌다(Liu et al. 2003). 하지만, 아직 어떻게 downstream signaling을 활성화 시키는지는 밝혀진 바 없다.

Ror2와 Ror1 knock-out mice는 Wnt5a KO mice와 유사한 phenotype을 나타내었다(Yamaguchi et al., 1999; Yoda et al., 2003). 실제로 non-canonical Wnt signaling을 전달한다고 알려진 Wnt5a가 receptor tyrosine kinase인 Ror2와 결합함으로써 β -catenin signaling을 inhibition한다고 밝혀졌는데, 흥미있는 사실은 Ror2가 Fz4와 LRP가 존재할 때에는 Ror2가 Wnt5a에 의하여 canonical β -catenin signaling을 활성화시킨다는 발견이다(Mikels and Nusse, 2006). 이 발견은 Wnt 자체가 canonical 또는 non-canonical signaling을 결정하는 것이 아니라 Wnt에 반응하는 세포가 갖고 있는 receptor context에 따라서 signaling이 결정됨을 보여주고 있다.

Wnt와 직접 결합하지는 않지만, single transmembrane protein인 Kremen은 LRP5/6와 함께 Wnt signaling의 inhibitor로 알려진 Dickkopf(Dkk)와 결합하며, 이러한 결합은 LRP5/6를 internalization 시킴에 의해서 Wnt signaling을 inhibition하는 결과를 유도한다(Mao et al., 2002). Dkk는 canonical Wnt/ β -catenin signalling의 target gene이라고 밝혀졌는데, 이는 Wnt signaling의 negative feedback regulation의 한 예이다(Niida et al., 2004; González-Sancho et al., 2005).

2. Wnt Signal Transduction in Cytoplasm

대부분의 G protein coupled receptor처럼 Fz가 seven transmembrane domain을 갖고 있다는 사실로 미루어 Wnt signaling이 G protein에 의해 매개된다고 여겨져 왔다. Fz와 β -adrenergic receptor의 chimeric form을 이용하여 Fz가 G protein coupled되어 있다는 사실이 밝혀졌지만, 실제로 이 사실은 최근에서야 *Drosophila* system에서 genetically 입증되었다(Liu et al., 2001; Katanaev et al., 2005). 어떻게 G protein이 활성화 되고, 활성화된 G protein이 기존에 알려진 canonical Wnt signaling의 조절에서 어떻게 작용하는지는 분명하지는 않지만, Axin을 β -catenin degradation com-

plex로부터 분리시켜서 canonical Wnt/ β -catenin signaling을 synergistic하게 활성화시킨다고 보고된 바 있다(Schulte and Bryja, 2007).

Fz와 LRP5/6가 Wnt에 의해서 활성화되면서 가장 먼저 일어나는 현상은 cytoplasm에 있는 Dishevelled(Dvl, *Drosophila* homolog는 Dsh)라는 단백질이 membrane으로 이동하여 Fz와 결합하고, β -catenin의 degradation complex에서 scaffolding protein으로 작용하던 Axin이 LRP5/6의 cytoplasmic domain과 결합하는 것이다(Fig. 1B, Cadigan and Liu, 2006). 활성화된 Fz/LRP5/6에 의해 casein kinase II가 Dvl을 phosphorylation시킨다고 알려졌지만, 이 phosphorylation이 Dvl의 membrane으로의 이동 전 또는 후에 일어나는지는 명확하지 않고, 어떤 signal에 의해서 Dvl이 membrane으로 이동하게 되는지는 분명치 않다(Song et al., 2000). LRP5/6에 Axin이 결합하기 위해서는 LRP5/6의 cytoplasmic domain에 있는 PPPSP motif가 membrane pool의 GSK3 β 와 CKI γ 에 의하여 phosphorylation되는 것이 필수적임이 밝혀졌다(Davidson et al., 2005). 전체적으로 종합하면, 활성화된 Fz/LRP에 의해서 LRP5/6의 phosphorylation이 유도되고, β -catenin degradation complex에 있던 Axin과 Dvl이 membrane으로 sequestration됨으로써 β -catenin의 degradation이 더 이상 일어나지 않게 된다고 할 수 있다.

Canonical Wnt signaling의 key effector molecule인 β -catenin의 cytoplasmic level의 조절에 관련된 연구는 관여하는 components의 수나 밝혀진 biochemical 기전들로 볼 때 가장 연구가 많이 된 분야이다. 이렇게 된 이유는 위에서 언급한 바와 같이 대장암을 유발하는 원인 유전자가 adenomatous polyposis coli gene이고, 이 gene product인 APC protein이 Wnt signaling의 key regulator molecule인 β -catenin의 level을 조절함이 밝혀졌기 때문이다(Rubinfeld et al., 1993; Su et al., 1993). 또한, 미국 Columbia 대학의 Dr. Costantini의 group에서 1997년에 보고한 Axin이 Wnt/ β -catenin signaling을 negative하게 조절한다는 결과는 β -catenin의 level을 조절하는 biochemical 기전 연구의 시발점이 되었다(Zeng et al., 1997).

β -catenin의 phosphorylation에 관여하는 GSK3 β 가 단독으로 존재할 때에는 β -catenin과의 affinity가 매우 낮아서 *in vitro*에서 β -catenin을 phosphorylation시키지 못하지만,

Axin이 scaffolding protein으로 작용함으로써 β -catenin과 GSK3 β 을 인접하게 하여 phosphorylation을 유도한다고 밝혀졌다(Ikeda et al., 1998). 우선 GSK3 β 가 Axin 과 결합하고 인산화시키면 β -catenin에 대한 Axin의 binding affinity가 증가하여 β -catenin과 Axin의 결합이 유도되고, β -catenin에 있는 GSK3 β 의 conserved sites인 S/T-Xn-S/T를 phosphorylation시키게 된다(Jho et al., 1999). 이렇게 phosphorylation된 β -catenin은 E3-ligase의 하나인 β -TrCP(*Drosophila* homolog는 Slimb)와 결합하여 ubiquitin/proteasome pathway를 통하여 degradation 됨으로써 cytoplasm 내의 β -catenin의 농도가 낮게 유지된다(Maniatis, 1997). 따라서 β -TrCP에 mutation이 일어나면, cytoplasmic β -catenin의 level이 증가하여 Wnt signaling이 activation될 것이라고 예상이 되는데, 실제로 β -TrCP의 homolog인 Slimb에 mutation이 생겼을 때 β -catenin의 level이 증가하고 Wnt signaling의 target gene들의 발현이 증가함을 보임으로써 이러한 pathway가 유전적으로 입증되어 있었고, 이 pathway가 상당히 conserve되어 있음이 밝혀졌다(Jiang and Struhl, 1998).

Wnt signaling이 왔을 때 위에서 언급한 바대로 β -catenin의 degradation complex에서 scaffolding protein으로 작용하고 있던 Axin이 membrane으로 이동하는 현상과 GSK3 β 의 activity가 조절되는 현상이 동시에 일어난다고 현재까지 여겨져 왔지만, 그 기전은 정확히 밝혀져 있지 않다. 비록 그 기전은 정확히 밝혀져 있지 않았으나, Wnt signaling에 의해 activation된 GBP/FRAT가 GSK3 β 와 결합함으로써 GSK3 β 의 activity를 조절하여 Wnt signaling의 positive role을 한다고 밝혀졌다(Li et al., 1999). 하지만, FRAT gene Knock-out mice가 Wnt signaling과 관련된 phenotype을 전혀 나타내지 않는 것으로 미루어 최소한 mammalian의 경우에는 FRAT가 Wnt signaling의 조절에 관여하지 않는다고 여겨지고 있다(van Amerongen et al., 2005; van Amerongen and Berns, 2005). 따라서, 최근에는 Axin의 membrane의 이동이 β -catenin의 level을 증가시키는 가장 critical한 step이라고 여겨지고 있다.

Axin이 β -catenin degradation complex로부터 빠져 나가게 되면, β -catenin은 더 이상 GSK3 β 에 의해 phosphorylation되지 않고, 또한 E3 ligase인 β -TrCP가 phosphorylation되지 않은 β -catenin을 인식하지 못하므로 cytoplasm 내 β -catenin의 양이 많아지고, 이 축적된 β -catenin은 핵내

로 들어가서 signaling을 전달하게 된다. Cytoplasmic β -catenin의 level이 증가하게 되는 또 다른 가능성은 Wnt signaling이 오게 되면, membrane에 있는 E-cadherin과 함께 cell adhesion 관여하는 β -catenin이 cytoplasm으로 release되는 것이다. 하지만, 이 가능성은 membrane에 있는 E-cadherin과 β -catenin의 affinity가 상당히 크고, Wnt signaling에 의해 조절 받지 않는다는 결과에 의해서 실제로 *in vivo*에서 일어날 가능성은 극히 낮다고 여겨진다.

3. Wnt Signal Transduction in Nucleus

Wnt signaling의 유전자의 발현의 조절은 많은 경우에 TCF/LEF(*Drosophila* homolog는 Pangolin)라는 DNA binding protein에 의해 조절된다(van de Wetering et al., 1997; Behrens et al., 1996). Wnt signaling이 없는 상태에서 TCF는 Groucho라는 protein과 complex를 형성하여 Wnt의 target gene의 발현을 억제하는 repressor로 작용한다(Cavallo et al., 1998). 이때 Groucho는 histone deacetylase(HDAC)이나 C-terminal binding protein(CtBP)와 interaction 함으로써 target gene의 transcription을 억제한다고 여겨진다(Fig. 2; Chen et al., 1999; Chinnadurai, 2002).

정확한 기전은 밝혀져 있지 않지만 cytoplasm에 축적된 β -catenin은 APC나 Axin과 결합해서 핵내로 이동한다고 여겨진다(Bienz, 2002; Cong and Varmus, 2004). 핵내로 들어온 β -catenin은 TCF/LEF와 결합함으로써 이들로부터 Groucho를 분리시키고 histone acetylase CBP/p300를 recruit 함으로써 transcription을 activation 시키게 된다(Hecht et al., 2000; Takemaru and Moon, 2000). 또한, chromatin remodeling에 관여하는 SWI/SNF complex의 component 중의 하나인 Brg-1이라는 activator도 추가적으로 결합하여 target gene의 발현을 활성화 시킨다(Baker et al., 2001). 최근의 결과에 의하면, Bcl9(*Drosophila* homolog는 Legless)나 Pygopus가 β -catenin의 nuclear localization에 관여하고, 핵내에서 β -catenin의 N-terminal과 interaction함에 의해 transcription을 활성화 시킨다고 보여진다(Belenkaya et al., 2002; Parker et al., 2002; Townsley et al., 2004; Hoffmann et al., 2005). Wnt signaling을 조절하는 가장 중요한 과정 중의 하나는 위에서 언급한 방법에 의해서 활성화된 β -catenin을 신호 전달이 끝난 뒤 activation complex로부터 제거하여 핵 밖으로 보내는 것이다. 정확한 기전은 밝혀지지 않았지만,

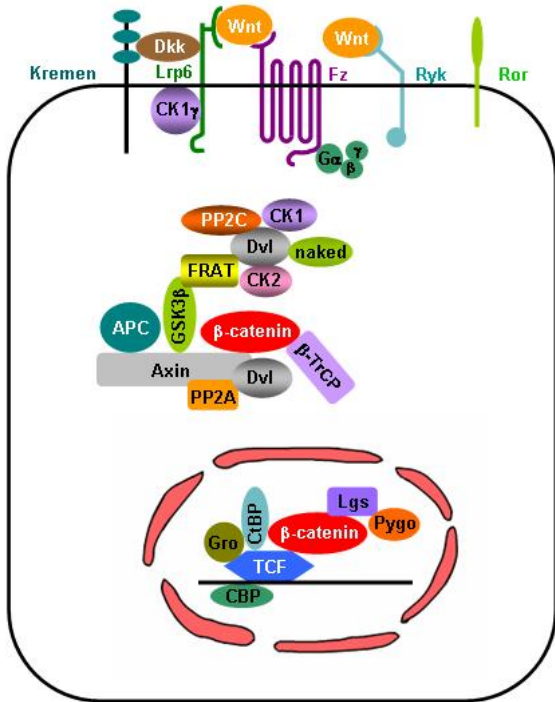


Fig. 2. Schematic diagram for the components which are involved in the regulation of Wnt signaling. There are much more components that are involved in the regulation of Wnt signaling. The accumulated list of components can be found in the Wnt homepage(<http://www.stanford.edu/~rnusse/wntwindow.html>).

이 과정에서 APC가 중요한 역할을 하고 있다고 여겨진다 (Henderson, 2000; Bienz, 2002; Hammerlein et al., 2005).

최근 들어서 핵 내에서 Wnt signaling의 조절에 관련된 많은 components가 발견되고 있고, 그 기전이 밝혀지고 있다. 본 총설에서는 더 이상 다루지 않지만, Willert and Jones (2006)의 review 논문과 그 논문에서 인용된 연구 결과들은 독자들의 이해에 도움이 될 것이다.

4. Wnt Signaling의 Target Genes

현재까지 밝혀진 target gene의 list는 <http://www.stanford.edu/~rnusse/wntwindow.html> site에서 계속적으로 update 되고 있다. Target gene들의 특징은 크게 3가지로 나눌 수 있다. 첫째로는 cancer의 진행과 관련된 gene들이 canonical Wnt/ β -catenin의 활성화에 의해 발현이 증가되는 것이다. 가령 cell cycle을 조절하는 c-myc이나 cyclin D1 등과 암세

포의 전이에 관여하리라고 여겨지는 matrix metalloproteinase (MMP)들이 Wnt signaling에 의해 발현이 증가한다(He et al., 1998; Tetsu et al., 1999; Balciunaite et al., 2002). 이를 통해서 Wnt signaling이 과 발현되었을 때 암이 유도되는 현상의 설명이 가능하다고 여겨진다. 두 번째의 특징은 발생의 조절에 관여하는 여러 가지 transcription factor의 발현의 변화이다. 예를 들어 *Xenopus* embryo의 dorsal fate를 결정하는 Siamois나, mouse의 mesodermal differentiation의 중요한 조절인자인 Brachyury 및 embryonic stem cell의 stemness를 조절하는 Nanog 등이 Wnt signaling의 target gene임이 밝혀졌다(Brannon et al., 1997; Arnold et al., 2000; Pereira et al., 2006). 세 번째의 특징은 negative feedback 조절에 관여하는 gene들의 발현이 증가된다는 점이다. 이를 테면 발현이 증가된 Axin2는 다시 Axin2/ β -catenin complex를 형성하여 β -catenin level의 억제를 유도하고, naked cuticle의 경우는 cytoplasm 내의 Dvl과 결합하여 Wnt/ β -catenin signaling을 억제하는 역할을 한다(Aulehla et al., 2003; Joh et al., 2002; Rousset et al., 2001). 또한, DKK1도 Wnt/ β -catenin signaling에 의해 발현이 증가되어 co-receptor인 LRP5/6와 결합하여 Wnt signaling을 억제하는 역할을 담당한다(Niida et al., 2004). 이러한 현상은 Wnt signaling이 특정 범위 내에서 정교하게 조절되고 있음을 시사한다.

현재까지 밝혀진 target gene들은 canonical Wnt에 의해 증가된 β -catenin이 TCF/LEF와 결합함으로써 발현이 조절되는 경우가 대부분이다. 하지만, 몇몇의 경우는 TCF/LEF independent하게 target gene의 발현이 조절되는 경우도 있다(<http://www.stanford.edu/~rnusse/wntwindow.html>). 어떤 transcription factor에 의해 발현이 조절되는지는 앞으로 밝혀져야 할 중요한 연구 과제 중의 하나이다. Non-canonical Wnt signaling에 의해서 발현이 조절되는 target gene의 발굴은 미미한 실정이다(Yun et al., 2007). Wnt signaling의 target gene임을 확인하는 실험 중 필수적인 것은 target gene의 promoter를 cloning하여서 reporter assay를 수행하였을 때 Wnt에 의해서 발현이 조절되는지 여부를 조사하는 것이다. Yun et al.(2007)의 경우에서 볼 수 있는 바와 같이 non-canonical Wnt signaling에 의해 mRNA의 level이 증가되는 Tropomodulin의 promoter가 non-canonical Wnt signaling에 response하지 않는다는 사실은 non-canonical signaling은 TCF/LEF와 같은 transcription factor 이외에도 en-

hancer 등과 같은 extra sequence element가 필요할 것이라고 생각된다. 하지만, 알려진 non-canonical Wnt signaling의 target이 적은 이유는 non-canonical signaling이 canonical signaling과 같이 직접적으로 target gene의 발현을 조절하지 않고 기존에 있는 protein의 activity를 조절함에 의해서 signaling을 전달할 수 있는 가능성도 있다고 여겨진다.

CONCLUSION AND PROSPECT

Wnt가 1982년에 밝혀진 이래로 지난 25년 동안 발생과 암의 형성에 있어서의 Wnt signaling의 역할을 밝히는 연구가 수행되어져 왔다. 그동안의 연구는 Wnt signaling의 전달이나 조절에 관여하는 특정 molecule의 기능을 밝히는데 초점이 맞추어져 왔다. 하지만, 최근 들어서 Wnt signaling의 이상에 의해 유도되는 질병의 수가 점점 더 많이 밝혀짐으로써 Wnt signaling을 therapeutic target으로 사용하여 질병을 치료하려는 시도의 일환으로 세계 유수의 제약회사에서 Wnt signaling을 조절하는 small molecule을 발굴하는 연구를 진행시켜 왔다. Wnt signaling을 조절하는 molecule은 여러 가지 non-specific한 문제를 내재하고 있다. 예를 들어 Wnt signaling의 저하에 의해서 유도되는 골다공증의 치료를 위하여 Wnt signaling을 촉진하는 drug을 사용할 경우, 암이 생성될 위험성이 있다. 하지만, 지금까지의 연구 결과는 이러한 내재적인 문제점에도 불구하고 Wnt signaling이 therapeutic target으로 적절하다고 보인다. 예를 들면, 그동안 수십 년 동안 조울증 치료제로 사용되어 왔던 LiCl의 경우 GSK3 β 의 activity를 억제함에 의해서 Wnt/ β -catenin signaling을 활성화 시키지만, 이 drug의 복용에 의해 암의 형성이 증가된다는 보고는 없다. 또한, APC mutation의 경우 대장암의 유발은 유도하지만, 다른 곳에서의 암의 형성을 잘 유발하지 않는다는 사실 등은 Wnt signaling에 대한 민감도가 tissue나 organ 별로 다르다는 사실을 시사한다. 또한, Wnt signaling은 다양한 negative feedback regulation에 의해 조절되고, 다른 signaling pathway와의 cross-talk에 의해 regulation 되기 때문에 특정 질병의 치료를 위한 therapeutic target으로의 적용이 가능하다고 여겨진다. 앞으로 siRNA technology가 좀 더 개발되어지고 small drug의 specific tissue로의 delivery가 가능해지면, Wnt signaling의 조절에 의한 질병의 치료가 가까운 장래에 실현될 것이라고 생각된다.

본 총설에서 기술한 바와 같이 Wnt가 처음으로 밝혀진 이후 25년간의 연구가 진행되어 왔지만, Wnt signaling의 전달 과정에 있어서 아직도 밝혀지지 않은 부분이 더 많은 실정이다. 따라서 지금까지 밝혀지지 않은 Wnt signaling을 조절하는 새로운 components의 발굴과 그 기능을 연구하고, 또한 다른 signaling과의 cross regulation을 밝힘으로써 Wnt signaling network을 총체적으로 조절하는 방법을 발굴하는 기초 연구가 강조되어야 할 것이다. 기초 연구와 다양한 질병의 치료를 목적으로 하는 Wnt signaling의 연구가 병행된다면, 향후 Wnt signaling의 연구는 지난 25년의 연구보다 더 많은 각광을 받음으로써 생물학의 연구를 통한 BT 산업의 발전에 크게 기여하게 될 것이다.

감사의 글

이 논문은 2006년도 서울시립대학교 학술연구조성비에 의하여 연구되었습니다.

인용문헌

- Arnold SJ, Stappert J, Bauer A, Kispert A, Herrmann BG, Kemler R (2000) Brachyury is a target gene of the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Mech Dev* 91:249-258.
- Aulehla A, Wehrle C, Brand-Saberi B, Kemler R, Gossler A, Kanzler B, Herrmann BG (2003) Wnt3a plays a major role in the segmentation clock controlling somitogenesis. *Dev Cell* 4:395-406.
- Babu P (1977) Early developmental subdivisions of the wing disk in *Drosophila*. *Mol Gen Genet* 151:289-294.
- Baker NE (1987) Molecular cloning of sequences from wingless, a segment polarity gene in *Drosophila*: the spatial distribution of a transcript in embryos. *EMBO J* 6:1765-1773.
- Balciunaite G, Keller MP, Balciunaite E, Piali L, Zuklys S, Mathieu YD, Gill J, Boyd R, Sussman DJ, Holländer GA (2002) Wnt glycoproteins regulate the expression of FoxN1, the gene defective in nude mice. *Nat Immunol* 3:1102-1108.
- Banziger C, Soldini D, Schütt C, Zipperlen P, Hausmann

- G, Basler K (2006) Wntless, a conserved membrane protein dedicated to the secretion of Wnt proteins from signaling cells. *Cell* 125:509-522.
- Bartscherer K, Pelte N, Ingelfinger D, Boutros M (2006) Secretion of Wnt ligands requires Evi, a conserved transmembrane protein. *Cell* 125:523-533.
- Behrens J, von Kries JP, Kühl M, Bruhn L, Wedlich D, Grosschedl R, Birchmeier W (1996) Functional interaction of beta-catenin with the transcription factor LEF-1. *Nature* 382:638-642.
- Bejsovec A (2006) Flying at the head of the pack: Wnt biology in *Drosophila*. *Oncogene* 25:7442-7449.
- Belenkaya TY, Han C, Standley HJ, Lin X, Houston DW, Heasman J, Lin X (2002) Pygopus encodes a nuclear protein essential for wingless/Wnt signaling. *Development* 129:4089-4101.
- Bhanot P, Brink M, Samos CH, Hsieh JC, Wang Y, Macke JP, Andrew D, Nathans J, Nusse R (1996) A new member of the frizzled family from *Drosophila* functions as a Wingless receptor. *Nature* 382:225-230.
- Bienz M (2002) The subcellular destinations of APC proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol* 3:328-338.
- Bijlmakers MJ, Marsh M (2003) The on-off story of protein palmitoylation. *Trends Cell Biol* 13:32-42.
- Brack AS, Conboy MJ, Roy S, Lee M, Kuo CJ, Keller C, Rando TA (2007) Increased Wnt signaling during aging alters muscle stem cell fate and increases fibrosis. *Science* 317:807-810.
- Brannon M, Gomperts M, Sumoy L, Moon RT, Kimelman D (1997) A beta-catenin/XTcf-3 complex binds to the siamois promoter to regulate dorsal axis specification in *Xenopus*. *Genes Dev* 11:2359-2370.
- Burrus LW, McMahon AP (1995) Biochemical analysis of murine Wnt proteins reveals both shared and distinct properties. *Exp Cell Res* 220:363-373.
- Cadigan KM, Liu YI (2006) Wnt signaling: complexity at the surface. *J Cell Sci* 119:395-402.
- Cavallo RA, Cox RT, Moline MM, Roose J, Polevoy GA, Clevers H, Peifer M, Bejsovec A (1998) *Drosophila* Tcf and Groucho interact to repress Wingless signalling activity. *Nature* 395:604-608.
- Chen G, Fernandez J, Mische S, Courey AJ (1999) A functional interaction between the histone deacetylase Rpd3 and the corepressor groucho in *Drosophila* development. *Genes Dev* 13:2218-2230.
- Chinnadurai G (2002) CtBP, an unconventional transcriptional corepressor in development and oncogenesis. *Mol Cell* 9:213-224.
- Cong F, Varmus H (2004) Nuclear-cytoplasmic shuttling of axin regulates subcellular localization of beta-catenin. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:2882-2887.
- Coudreuse D, Korswagen HC (2007) The making of Wnt: new insights into Wnt maturation, sorting and secretion. *Development* 134:3-12.
- DasGupta R, Kaykas A, Moon RT, Perrimon N (2005) Functional genomic analysis of the Wnt-wingless signaling pathway. *Science* 308:826-833.
- Davidson G, Wu W, Shen J, Bilic J, Fenger U, Stanek P, Glinka A, Niehrs C (2005) Casein kinase 1 gamma couples Wnt receptor activation to cytoplasmic signal transduction. *Nature* 438:867-872.
- González-Sancho JM, Aguilera O, García JM, Pendás-Franco N, Peña C, Cal S, García de Herreros A, Bonilla F, Muñoz A (2005) The Wnt antagonist DICKKOPF-1 gene is a downstream target of beta-catenin/TCF and is downregulated in human colon cancer. *Oncogene* 24:1098-1103.
- Hammerlein A, Weiske J, Huber O (2005) A second protein kinase CK1-mediated step negatively regulates Wnt signalling by disrupting the lymphocyte enhancer factor-1/beta-catenin complex. *Cell Mol Life Sci* 62:606-618.
- Hecht A, Vleminckx K, Stemmler MP, van Roy F, Kemler R (2000) The p300/CBP acetyltransferases function as transcriptional coactivators of beta-catenin in vertebrates. *EMBO J* 19:1839-1850.
- Henderson BR (2000) Nuclear-cytoplasmic shuttling of APC regulates beta-catenin subcellular localization and

- turnover. *Nat Cell Biol* 2:653-660.
- He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa LT, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW (1989) Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science* 281:1509-1512.
- Hoffmans R, Stadel R, Basler K (2005) Pygopus and legless provide essential transcriptional coactivator functions to armadillo/beta-catenin. *Curr Biol* 15:1207-1211.
- Huelsken J, Behrens J (2002) The Wnt signalling pathway. *J Cell Sci* 115:3977-3978.
- Ikeda S, Kishida S, Yamamoto H, Murai H, Koyama S, Kikuchi A (1998) Axin, a negative regulator of the Wnt signaling pathway, forms a complex with GSK-3beta and beta-catenin and promotes GSK-3beta-dependent phosphorylation of beta-catenin. *EMBO J* 17:1371-384.
- Jho E, Lomvardas S, Costantini F (1999) A GSK3beta phosphorylation site in axin modulates interaction with beta-catenin and Tcf-mediated gene expression. *Biochem Biophys Res Commun* 266:28-35.
- Jho EH, Zhang T, Domon C, Joo CK, Freund JN, Costantini F (2002) Wnt/beta-catenin/Tcf signaling induces the transcription of Axin2, a negative regulator of the signaling pathway. *Mol Cell Biol* 22:1172-1183.
- Jiang J, Struhl G (1998) Regulation of the Hedgehog and Wingless signalling pathways by the F-box/WD40-repeat protein Slimb. *Nature* 391:493-496.
- Katanaev VL, Ponzielli R, Sémériva M, Tomlinson A (2005) Trimeric G protein-dependent frizzled signaling in *Drosophila*. *Cell* 120:111-122.
- Kato M (2005) WNT/PCP signaling pathway and human cancer (review). *Oncol Rep* 14:1583-1588.
- Kleber M, Sommer L (2004) Wnt signaling and the regulation of stem cell function. *Curr Opin Cell Biol* 16:681-687.
- Li L, Yuan H, Weaver CD, Mao J, Farr GH 3rd, Sussman DJ, Jonkers J, Kimelman D, Wu D (1999) Axin and Frat1 interact with dvl and GSK, bridging Dvl to GSK in Wnt-mediated regulation of LEF-1. *EMBO J* 18:4233-4240.
- Liu H, Fergusson MM, Castilho RM, Liu J, Cao L, Chen J, Malide D, Rovira II, Schimel D, Kuo CJ, Gutkind JS, Hwang PM, Finkel T (2007) Augmented Wnt signaling in a mammalian model of accelerated aging. *Science* 317:803-806.
- Liu T, DeCostanzo AJ, Liu X, Wang Hy, Hallagan S, Moon RT, Malbon CC (2001) G protein signaling from activated rat frizzled-1 to the beta-catenin-Lef-Tcf pathway. *Science* 292:1718-1722.
- Lu W, Yamamoto V, Ortega B, Baltimore D (2004) Mammalian Ryk is a Wnt coreceptor required for stimulation of neurite outgrowth. *Cell* 119:97-108.
- Mao B, Wu W, Davidson G, Marhold J, Li M, Mechler BM, Delius H, Hoppe D, Stanek P, Walter C, Glinka A, Niehrs C (2002) Kremen proteins are Dickkopf receptors that regulate Wnt/beta-catenin signalling. *Nature* 417:664-667.
- Mason JO, Kitajewski J, Varmus HE (1992) Mutational analysis of mouse Wnt-1 identifies two temperature-sensitive alleles and attributes of Wnt-1 protein essential for transformation of a mammary cell line. *Mol Biol Cell* 3:521-533.
- Maniatis T (1999) A ubiquitin ligase complex essential for the NF-kappaB, Wnt/Wingless, and Hedgehog signaling pathways. *Genes Dev* 13:505-510.
- Mikels AJ, Nusse R (2006) Wnts as ligands: processing, secretion and reception. *Oncogene* 25:7461-7468.
- Mikels AJ, Nusse R (2006) Purified Wnt5a protein activates or inhibits beta-catenin-TCF signaling depending on receptor context. *PLoS Biol* 4:e115.
- Moon RT, Kohn AD, De Ferrari GV, Kaykas A (2004) WNT and beta-catenin signalling: diseases and therapies. *Nat Rev Genet* 5:691-701.
- Niida A, Hiroko T, Kasai M, Furukawa Y, Nakamura Y, Suzuki Y, Sugano S, Akiyama T (2004) DKK1, a negative regulator of Wnt signaling, is a target of the beta-catenin/TCF pathway. *Oncogene* 23:8520-8526.
- Noordermeer J, Johnston P, Rijsewijk F, Nusse R, Lawrence PA (1992) The consequences of ubiquitous ex-

- pression of the wingless gene in the *Drosophila* embryo. *Development* 116:711-719.
- Nusse R, Varmus HE (1982) Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome. *Cell* 31:99-109.
- Nusse R, Brown A, Papkoff J, Scambler P, Shackleford G, McMahon A, Moon R, Varmus H (1991) A new nomenclature for int-1 and related genes: the Wnt gene family. *Cell* 1991 64:231.
- Parker DS, Jemison J, Cadigan KM (2002) Pygopus, a nuclear PHD-finger protein required for Wingless signaling in *Drosophila*. *Development* 129:2565-2576.
- Pereira L, Yi F, Merrill BJ (2006) Repression of Nanog gene transcription by Tcf3 limits embryonic stem cell self-renewal. *Mol Cell Biol* 26:7479-7491.
- Rijsewijk F, Schuermann M, Wagenaar E, Parren P, Weigel D, Nusse R (1987) The *Drosophila* homolog of the mouse mammary oncogene int-1 is identical to the segment polarity gene wingless. *Cell* 50:649-657.
- Rousset R, Mack JA, Wharton KA Jr, Axelrod JD, Cadigan KM, Fish MP, Nusse R, Scott MP (2001) Naked cuticle targets dishevelled to antagonize Wnt signal transduction. *Genes Dev* 15:658-671.
- Rubinfeld B, Souza B, Albert I, Muller O, Chamberlain SH, Masiarz FR, Munemitsu S, Polakis P (1993) Association of the APC gene product with beta-catenin. *Science* 262:1731-1734.
- Schulte G, Bryja V (2007) The Frizzled family of unconventional G-protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol Sci* 28:518-525.
- Song DH, Sussman DJ, Seldin DC (2000) Endogenous protein kinase CK2 participates in Wnt signaling in mammary epithelial cells. *J Biol Chem* 275:23790-23797.
- Stathopoulos A, Levine M (2005) Genomic regulatory networks and animal development. *Dev Cell* 9:449-462.
- Stelzl U, Worm U, Lalowski M, Haenig C, Brembeck FH, Goehler H, Stroedicke M, Zenkner M, Schoenherr A, Koeppen S, Timm J, Mintzlauff S, Abraham C, Bock N, Kietzmann S, Goedde A, Toksoz E, Droege A, Krobitsch S, Korn B, Birchmeier W, Lehrach H, Wanker EE (2005) A human protein-protein interaction network: a resource for annotating the proteome. *Cell* 122:957-968.
- Su LK, Vogelstein B, Kinzler KW (1993) Association of the APC tumor suppressor protein with catenins. *Science* 262:1734-1737.
- Takemaru KI, Moon RT (2000) The transcriptional co-activator CBP interacts with beta-catenin to activate gene expression. *J Cell Biol* 149:249-254.
- Tamai K, Semenov M, Kato Y, Spokony R, Liu C, Katsuyama Y, Hess F, Saint-Jeannet JP, He X (2000) LDL-receptor-related proteins in Wnt signal transduction. *Nature* 407:530-535.
- Tanaka K, Kitagawa Y, Kadowaki T (2002) *Drosophila* segment polarity gene product porcupine stimulates the posttranslational N-glycosylation of wingless in the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 277:12816-12823.
- Tetsu O, McCormick F (1999) Beta-catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature* 398:422-426.
- Townsley FM, Cliffe A, Bienz M (2004) Pygopus and Legless target Armadillo/beta-catenin to the nucleus to enable its transcriptional co-activator function. *Nat Cell Biol* 6:626-633.
- van Amerongen R, Nawijn M, Franca-Koh J, Zevenhoven J, van der Gulden H, Jonkers J, Berns A (2005) Frat is dispensable for canonical Wnt signaling in mammals. *Genes Dev* 19:425-430.
- van Amerongen R, Berns A (2005) Re-evaluating the role of Frat in Wnt-signal transduction. *Cell Cycle* 4:1065-1072.
- van Amerongen R, Berns A (2006) Knockout mouse models to study Wnt signal transduction. *Trends Genet* 22:678-689.
- van de Wetering M, Cavallo R, Dooijes D, van Beest M, van Es J, Loureiro J, Ypma A, Hursh D, Jones T, Bejsovec A, Peifer M, Mortin M, Clevers H (1997) Armadillo coactivates transcription driven by the prod-

- uct of the *Drosophila* segment polarity gene dTCF. Cell 88:789-799.
- Veeman MT, Axelrod JD, Moon RT (2003) A second canon: Functions and mechanisms of beta-catenin-independent Wnt signaling. Dev Cell 5:367-377.
- Wehrli M, Dougan ST, Caldwell K, O'Keefe L, Schwartz S, Vaizel-Ohayon D, Schejter E, Tomlinson A, DiNardo S (2000) Arrow encodes an LDL-receptor-related protein essential for Wingless signalling. Nature 407:527-530.
- Wieschaus E, Nusslein-Volhard C, Kluding H (1984) Krüppel, a gene whose activity is required early in the zygotic genome for normal embryonic segmentation. Dev Biol 104:172-186.
- Willert K, Brown JD, Danenberg E, Duncan AW, Weissman IL, Reya T, Yates JR 3rd, Nusse R (2003) Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors. Nature 423:448-452.
- Willert K, Jones KA (2006) Wnt signaling: is the party in the nucleus? Genes Dev 20:1394-1404.
- Yamaguchi TP, Bradley A, McMahon AP, Jones S (1999) A Wnt5a pathway underlies outgrowth of multiple structures in the vertebrate embryo. Development 126:1211-1223.
- Yoshikawa S, McKinnon RD, Kokel M, Thomas JB (2003) Wnt-mediated axon guidance via the *Drosophila* Derailed receptor. Nature 422:583-588.
- Yun S, Rim Y, Jho EH (2007) Induced expression of the transcription of tropomodulin 1 by Wnt5a and characterization of the tropomodulin 1 promoter. Biochem Biophys Res Commun 363:727-732.
- Zeng L, Fagotto F, Zhang T, Hsu W, Vasicek TJ, Perry WL 3rd, Lee JJ, Tilghman SM, Gumbiner BM, Costantini F (1997) The mouse fused locus encodes axin, an inhibitor of the Wnt signaling pathway that regulates embryonic axis formation. Cell 90:181-192.
- Zhang Q, Major MB, Takanashi S, Camp ND, Nishiya N, Peters EC, Ginsberg MH, Jian X, Randazzo PA, Schultz PG, Moon RT, Ding S (2004) Small-molecule synergist of the Wnt/beta-catenin signaling pathway. Proc Natl Acad Sci USA 104:7444-7448.